

## بیان و تخلیص ناحیه‌ی کینازی پروتئین نوترکیب گیرنده‌ی عامل رشد فیبروبلاستی نوع 2b و بررسی تغییرات ساختاری آن بر اثر برهم‌کنش آن با گالیک اسید

فائزه سید عطاران<sup>۱</sup>، دکتر داریوش ایلغاری<sup>۲</sup>، دکتر نعمت‌اله غیبی<sup>۳</sup>، دکتر مهدی سهمانی<sup>۴</sup>، دکتر حسین پیری<sup>۲</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** گیرنده‌ی عامل رشد فیبروبلاستی 2b (Fibroblast growth factor receptor 2b یا FGFR2b) در مسیر پیام‌رسانی سلولی و تنظیم فرایندهای مهم زیستی نظیر تمایز و تکثیر سلولی نقش اساسی دارد. تغییرات ژنتیک نظیر جهش نقطه‌ای در ناحیه‌ی تیروزین کینازی FGFR2b با سرطان پستان، تخمدان و پروستات در ارتباط است. این مطالعه، به منظور بیان و خالص‌سازی مقدار مناسبی از ناحیه‌ی کینازی FGFR2b انسانی و بررسی تغییرات ساختاری آن با گالیک اسید انجام شد.

**روش‌ها:** بیان پروتئین نوترکیب با استفاده از IPTG (Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside) ۱ میلی‌مولار در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد القا و با استفاده از الکتروفورز روی ژل پلی‌آکریلامید در حضور سدیم دودسیل سولفات (Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) یا SDS-PAGE (SDS-PAGE) ارزیابی شد. پروتئین بیان شده با استفاده از کروماتوگرافی میل ترکیبی خالص شد و فعال بودن نمونه‌ی پروتئین بعد از دیالیز بررسی شد. طیف فلورسانس و دناتوراسیون شیمیایی پروتئین خالص شده، در حضور غلظت‌های مختلف گالیک اسید سنجیده شد.

**یافته‌ها:** بررسی SDS-PAGE قبل و بعد از القا شدن نشان داد که پروتئین بیان شده در دمای ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد محلول است. همچنین، تأیید کرد که پروتئین خالص شده است. بررسی طیف‌سنجی فلورسانس، افزایش شدت نشر را با افزایش تدریجی غلظت گالیک اسید نشان داد. دناتوراسیون شیمیایی ساختار سوم زیر واحدهای ناحیه‌ی کینازی را در حضور گالیک اسید تغییر داد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به یافته‌ها، ناحیه‌ی کینازی گیرنده‌ی نوترکیب عامل رشد فیبروبلاستی 2b که یک پروتئین ۳۸ کیلوالتونی است، تولید و خالص گردید. تغییرات ساختار سوم دومین کینازی، موجب ناپایدار شدن آن در حضور گالیک اسید گردید. این ناپایداری در سطح مولکولی، می‌تواند موجب اختلال در مسیر پیام‌رسانی سلول شود.

**واژگان کلیدی:** گیرنده‌ی عامل رشد فیبروبلاست نوع ۲، گالیک اسید، اسپکترومتری فلورسانس

**ارجاع:** سید عطاران فائزه، ایلغاری داریوش، غیبی نعمت‌الله، سهمانی مهدی، پیری حسین. بیان و تخلیص ناحیه‌ی کینازی پروتئین نوترکیب گیرنده‌ی عامل رشد فیبروبلاستی نوع 2b و بررسی تغییرات ساختاری آن بر اثر برهم‌کنش آن با گالیک اسید. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۴؛ ۳۳ (۳۶۲): ۲۱۵۱-۲۱۴۳

### مقدمه

در دوران جنینی و بزرگسالی در بدن توسط این گیرنده‌ها با اتصال به عوامل رشد فیبروبلاستی (FGF یا Fibroblast growth factor) انجام می‌شوند (۲). عوامل رشد فیبروبلاستی در پستانداران شامل خانواده‌ای از ۱۸ عضو هستند که از طریق چهار گیرنده‌ی تیروزین کینازی (FGFR1 تا FGFR4) ایجاد پیام می‌کنند (۳). مشخص شده است که انتقال پیام کنترل نشده‌ی عوامل رشد

گیرنده‌های عامل رشد فیبروبلاستی (FGFR) یا Fibroblast growth factor receptor) در مسیر پیام‌رسانی سلول، نقش کلیدی در تنظیم فرایندهای زیستی از جمله تکثیر سلولی، بقا، مهاجرت و تمایز سلولی ایفا می‌کنند (۱). متابولیسم سلولی، ترمیم بافتی، رگ‌زایی و توسعه‌ی مراحل جنینی، از جمله وظایفی هستند که

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان، ایران

۲- استادیار، گروه بیوشیمی و ژنتیک، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۳- دانشیار، گروه زیست‌فناوری پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۴- دانشیار، گروه بیوشیمی و ژنتیک، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

Email: hosseinpiry@gmail.com

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر حسین پیری